「植物保護新科技研討會」專刊
臺灣省農業試驗所特刊第57號 pp. 161-180 (1996)

利用桿狀病毒防治作物害蟲

高 穗 生
臺灣省農業藥物毒物試驗所生物藥劑系

摘要：昆蟲病毒中之桿狀病毒由於對害蟲有致病力，致死力，有儲存性和對環境安全，最適於做為害蟲防治劑。至於桿狀病毒在蟲害防治上之應用，最主要的方法在於將病毒製成殺蟲劑以噴灑方式使用，此外，尚有一些頗具前瞻性的防治法。包括：流行疫病的預測；古典生物防治；半古典生物防治；病毒資源管理；寄生性天敵和捕食性天敵之協助；自動傳染；病毒的早期引進；方格式引進。但由於病毒殺蟲時間長、寄生範圍窄、在環境中易受紫外線破壞、毒力低，使得發展受到限制。可借製劑配方和遺傳工程來改善其殺蟲性質。紫外線保護劑、增强因子和佐劑之添加有助於其在田間之表現。另外，利用基因重組技術：可在病毒基因組中插入對昆蟲有專一性的酶、激素或毒素的基因；病毒本身基因的修飾；異源病毒之重組等亦能改變病毒的殺蟲範圍和增加殺蟲效果。又，田間釋放經基因工程改造過之桿狀病毒之潛在風險和改善其生物安全性之策略亦於本文中討論。

關鍵詞：桿狀病毒、防治、害蟲。

前 言

桿狀病毒(Baculovirus)能造成包括鱗翅目、雙翅目、膜翅目及鞘翅目等之致命疾病[23]已有600餘種桿狀病毒被描述[42]。早期桿狀病毒科(Baculoviridae)被歸為三個亞組(subgroup):A.核多角體病毒(nuclear polyhedrosis virus, NPV)，B.顆粒體病毒(Granulosis virus, GV)和C.無包涵體，桿狀核病毒(nonocluded, rod-shaped virus, NOV)[43]。而Francki *et al.*[21]將前二亞組歸類為真桿狀病毒亞科(Eubaculovirinae)，第三亞組歸類為裸桿狀病毒亞科(Nudibaculovirinae) 其中，NPV屬病毒又依囊膜(envelope)內含核衣殼(nucleocapsid)之多寡而區分成兩個亞屬：即單核衣殼核多角體病毒(single nuclecocapsid NPV, SNPV)，以家蠶核多角體病毒(*Bombyx mori* NPV)為標準種；多核衣殼核多角體病毒(multiple nucleocapsid NPV, MNPV)，以加州苜蓿尺蠖蛾NPV(*Autographa californica* NPV)為標準種。GV屬病毒則每一囊膜含一個核衣殼，顆粒體中含一個病毒粒子(viron)，少數含有兩個或兩個以上，以印度穀蛾GV (*Plodia interpunctella* GV)為標準種。無包涵體桿狀病毒每一個囊膜含有一核衣殼，並無包涵體，以玉米穗蟲無包涵體病毒(*Heliothis zea* nonocluded virus, NOB)為標準種。

當包涵體被昆蟲取食後，在中腸鹼性條件下溶解。被釋放的病毒粒子經過昆蟲腸道之圍食膜，感染中腸上皮細胞，特別是柱狀和再生細胞。病毒在這些細胞之細胞核中增殖，而後代核衣殼發芽穿過中腸細胞膜進入昆蟲血液中。此細胞外病毒(extracellular virus, ECV)，在血液中循環，再次感染昆蟲其他器官，如脂肪體。易言之，細胞與細胞間之感染和蔓延主要是細胞外病毒之作用。在感染後期，病毒粒子則被包涵體包住形成包涵病毒(occluded virus, OV)，主導蟲與蟲間之感染

(68)。桿狀病毒寄主範圍之特異性高，在自然界能造成流行病，降低昆蟲之棲群。故而，被認爲農林害蟲具吸引力的生物防治劑，是化學防治之替代方案。桿狀病毒在全世界曾經成功地被用來防治許多害蟲包括蘋果蛀心蟲，花旗松毒蛾，甜菜夜蛾，松小眼夜蛾，秋粘蟲，甘藍夜蛾等(67)。吾人可依據害蟲存活的策略，可以利用桿狀病毒來有效地防治害蟲。當然，面對桿狀病毒之限制因子，我們亦可借諸製劑改善和基因操作技術來提升其殺蟲特性。

以桿狀病毒來防治害蟲的策略

生態學者把某一生物在某一特定生態系中所賴以存活的策略區分成 r 及 K 兩種，由於策略的運用只是程度的差異，故事實上是由 r 端至K端的連續(r -K continum)[11,56]。根據這項理論，害蟲可分成 r 害蟲、K 害蟲及 r -K 中間物(r -K intermediate)， r 害蟲能適應高度不穩定的環境，它們的最佳策略是擁有極高的生殖能力，雜食性，體型小，具有遷移性，它們是一生態系中的墾荒者，一旦侵入棲所立足以後即能在短時內大量繁殖；相反的，K 害蟲一般生活在穩定環境中，其最佳策略是利用棲所之最大載荷量的剩餘空間，以低的生殖率及低的棲群密度，存在一低的平衡點上，一般個體較大，世代較長，較不易移動，其族群變動幅度小，常在一低的平衡點上，作小幅度的起伏[2,19]。如能瞭解害蟲在 r -K 連續所處的位置，和害蟲與病毒之關連性，就能適當的採用介入的策略，而能更有效地以病毒來防治害蟲[19]。

流行疫病預測

防治效果的好壞端在採行之策略，表一可見介入的策略，從被動開始，如果流行疫病能被預測的話，當然無需作任何防治，所以預測成爲介入最少的一種策略。由於流行疫病之預測是一個相當大的課題，本文之討論僅限於在已經存在的接種源情況下，降雨對起始猖獗族群感染率之影響，降雨主要被認爲是對昆蟲之眞菌流行病發展有利，但有許多資料顯示，對起動病毒之猖獗，亦有相當的價值。在熱帶或溫帶地區的夏季，有相當長的乾旱，故限制了接種源之移動。此時如果接種源已存在葉表，而沒有死亡的昆蟲保護，可能很快就被日光的紫外線不活化。在此情況下，流行疫病可能會被抑止，但在天然或人爲的降雨之後，會開始流行[19]。有學者提出針對毒蛾(*Lymantria ninayi*)在垂枝松之管理決策模式，根據前次毒蛾猖獗的密度和猖獗時間的長短，加上在孵化期和幼齡幼蟲期之降雨和乾燥，即可決定防治與否，因在某些情況下，降雨能造成病毒流行疫病盛行，故無需防治[19,55]。

古典生物防治

雖然許多昆蟲病毒能產生流行疫病，會嚴重地限制寄主的族群，但不能及時提供經濟的作物保護，或提供保護的期間有限，而不被歸於古典生物防治劑。然而雲杉鋸角葉蜂(*Gilpinia hercyniae*)被核多角體病毒所控制的歷史，則是一個相反的例子。在1938年偶然地引入此單一寄主的核多角體病毒，到一危害加拿大三萬平方公里雲杉林的雲杉鋸角葉蜂之族群中，造成大量的自然散佈，該害蟲亦受到控制。英國威爾斯地區在1970年至1973 年的雲杉鋸角葉蜂族群中，發生了核多角體病毒的流行疫病，之後，族群相當低(每10株少於 1 隻蟲)將來要利用病毒作古典防治劑時，只有在外來害蟲在新的地區建立族群，而不曾被受害區的天敵所控制之情況下，病毒才能顯現其價值(19)。

表一、病毒介入方式和寄主r-K選擇之關係[19]

Table 1. Routes of virus intervention in relation to host r-K selection

Route of intervention	Pest r strategy	r-K intermediate	K
Epizootic prediction	unlikely	valuable in plantation crops	unlikely
Classical biological control	unlikely	occasionally valuable	unlikely
Semi-classical biological control	unlikely	occasionally valuable	valuable
Virus resource mamagement	valuable in pasture and forage crops	valuable in pasture, forage and plantation crops	unlikely
Parasite and Predator support	possibly valuable	possible valuable	unlikely
Autodissemination	additive value	additive valuable	valuable
Early introductions	possibly valuable	possibly valuable	unlikely
Lattice introductions	unlikely	valuable	occasionally valuable
Sprays { Single	unlikely	valuable	sometimes valuable
Sprays { Multiple	often essential	occasionally necessary	sometimes essential

半古典生物防治

半古典生物防治是藉由天然的散佈機制來達到傳播病毒接種源的目的，但爲了要維持理想的害蟲防治限界，必需定期地提高接種源。三毛亞的犀角金龜(*Orycetes rhinoceros*)爲可可椰子之外來害蟲，在1967年開始釋放犀角金龜桿狀病毒之後，得到可接受的防治。過了 7 年之後，當感染水平下降到30-50%時，防治效果開始下降，在1975年再度釋放病毒後，無論是金龜之數目和損失，均有顯著的減少[40]。

病毒資源管理

有些例子看出害蟲和病毒間有著長期的平衡關係，並不會造成經濟損失，此種穩定是由於害蟲和病原共同享有對病原存活有利的環境，在紐西蘭的牧場，有蝙蝠蛾(*Wiseana* spp.)取食在土表或近土表的牧草，天然的核多角體病毒的流行疫病會發生，大多是病毒聚集於上層的土壤[34, 47]，若改變長期牧草爲短期牧草，並伴隨著犁耕，則造成蝙蝠蛾嚴重猖獗，其原因可能是由於接種源被埋到較深的土壤使然；此時再播種短期牧草，減少土壤的擾亂，病毒資源又再度恢復，經由這樣的管理系統，能得到良好蟲害防治及牧草之生產力[34]。

捕食性和寄生性天敵之協助

雖然捕食和寄生性天敵能被動但有效地攜帶昆蟲病毒，但對此能力很少有研究去瞭解和操縱。大多數的調查有關媒介桿狀病毒的寄生性天敵屬於小繭蜂類(表二)。在美北洲將姬蜂(*Lyphyroplectus oblongopunctatus*)之成蟲以核多角體病毒處理，釋放100隻於歐洲松葉蜂(*Neodiprion sertifer*)之二齡幼蟲族群中，能有效地建立該疾病[46]。

捕食天敵媒介病毒可經由其體表之攜帶，但重要的是有包涵的病毒，可經由捕食性天敵之腸道而存活，可能是由於捕食性天敵腸道的pH值為中性到酸性之故(表三)，引入以核多角體病毒污染之捕食性椿象(*Podisus maculiventris*)於田間網室中，可使擬尺蠖(*Trichoplusia ni*)之族群，在21天內降到0，而僅有椿象之處理者，每株尚有14株擬尺蠖幼蟲[9]。

表二、能傳染桿狀病毒的寄生性昆蟲[17]

Table 2. Parasitoids transmitting baculovirus

Oder	Family	Nos. of species
Hymenoptera	Braconidae	7
	Encyrtidae	1
	Ichneumonidae	2
Diptera	Tachinidae	4

表三、桿狀病毒經動物腸道後仍具感染力[17]

Table 3. Survival of infectivity of bacuboviruses following passage through animal gut.

Class	Other	Numbers	
		Families	species
Insecta	Orthoptera	1	2
	Hemiptera	2	3
	Diptera	1	2
	Coleoptera	2	2
Arachnida	Opiliones (Phalangida)	1	1
Vertebrata	Aves	13	27
	Mammalia	7	9
Total		27	46

自動傳染

自動傳染疾病要能有效，應借重成蟲，因幼蟲期移動的範圍受到相當的限制(表四)。自動傳染最有名的例子是犀角金龜的防治，可可椰子的犀角金龜，在南太平洋地區是油棕和可可椰子最重要的害蟲。成蟲取食心葉和生長點，造成嚴重危害。犀角金龜之非包涵體桿狀病毒最早在馬來

西亞被發現[27]，此病毒能使幼蟲致命，亦會感染成蟲腸道[75]，造成細胞增殖且排出大量的病毒，使得罹病之成蟲變成一個活動的病毒工廠[28]，成蟲成爲媒介此疾病的病媒，可傳播此病一相當的距離[74]，另外，雌蟲產卵率亦大幅度下降[8]。

成蟲可在室內飼養，亦可在田間採集或誘集，餵以10 μl病毒懸浮液於10％蔗糖水中，1隻成蟲腸道浸入10ml之10%糖水中，可感染1,000隻成蟲。成蟲保留一星期後，置於內置堆肥之開口盒中，任其自由進出傳播[19]。Young[74]指出於東加群島之Tongatapu 島，犀角金龜病毒在釋放後450日，可傳播30里外。故一旦建立起來，此病毒可以繼續在甲蟲族群中存在，成爲南太平洋地區防治此蟲最重要之方法[8]。

表四、成蟲自動傳染昆蟲病毒[19]

Table 4. Autodissemination of viruses by adult insects

Host	Virus	Method virus carriage
Oryctes rhinoceros	BV subgroup C	Infected adult gut
Neodiprion swainei	NPV	Infected adult gut
Trchoplusia ni	NPV	feeding NPV in sucrose
Hyphantria cunea	NPV	dusting
Heliothis spp.	NPV	dusting wild adults in/ off light traps
Colias philodice eurytheme	NPV	virus paste on female genital armature
Pieris brassicae	GV	virus paste on female genital armature

早期引進病毒

目的在於激發一自我維持的流行疫病，以免除一系列的噴灑，且能阻止作物在早期受害。此策略針對世代重疊或單化性而孵化期不一致 r-K 中間型的害蟲或 r 型的害蟲，有潛在的價值[19]。例如將甘藍在移植時，浸入核多角體懸浮液，在84天的取樣期間，能使95% 之擬尺蠖感病[33]。

方格式引進

決定以方格形式來引入病源，其引入的間隔是隨著引入點造成相當程度的感染所花費的時間，及傳播的距離而定，尙需將經濟列入考慮。此種方格式的引入，通常較普遍的噴灑要省錢，可以間隔噴灑或引入罹病之蛹隻來達成方格式引入[18]。

當作殺蟲劑使用

桿狀病毒適合做爲生物性殺蟲劑，噴灑桿狀病毒來防治害蟲成功的例子相當多。到目前爲止共有32種商品化之病毒殺蟲劑，但其中 Elcar已撤銷登記(表五)[14]。許多產品用於森林害蟲防治，且多爲政府單位登記者。森林爲使用病毒殺蟲劑最佳環境，因其生態系統相當穩定，經濟爲害限

表五、商品化之病毒殺蟲劑和其標的害蟲[14]

Table 5. Viral products which have been commercialised and their target pests

Viral Product	Producer	Status	Target pest(s)
1. *Adoxohyes orana* GV			
Capex	Andermatt Biocontrol, Switzerland	S	*A. orana*
2. *Agrotis segetum* GV			
Virin-OS	NPO Vector, Russia	R	*A. segetum*
Agrovir	- Denmark	RN	*A. segetum*
3. *Anticarsia gemmatalis* NPV			
Polygen	Agroggen S/A Biol Ag, Brazil	R	*A. gemmatalis*
Multigen		S	*Diatreae saccaralis, A. gemmatalis*
4. *Autographa californica* NPV			
VPN 80	Agricola El Sol, Guatemala	R	*A. californica, Trichoplusia ni, Bucculatrix thuberiella, Pseudoplusia includens, Estigmene acrea, Plutella xylostella, Spodoptera exigua*
5. *Cydia pomonella* GV			
Madex	Andermatt Biocontrol, Switzerland	R	*C. pomonella*
Granupom	Hoechst, Germany	R	*C. pomonella*
Carpovirusine	Calliope, France	S	*C. pomonella*
Decyde	MicroGeneSys,USA	S	*C. pomonella*
Virin-Gyap	NPO Vector, Russia	R	C. pomonella
6. *Heliothis armigera* NPV			
Virin KhS	NPO Vector, Russia	R	*Heliothis* spp.
78-3	- Mainland China	R	*Heliothis* spp.
7. *Heliothis zea* NPV			
Elcar	Sandoz, USA	W	*Heliothis* spp.
8. *Hyphantria cunea* NPV + GV			
Virin ABB	NPO Vector, Russia	R	*H. cunea*
9. *Lymantria dispar* NPV			
Gypcheck	USDA Forest Service	R*	*L. dispar*
Virin-ENSH	NPO Vector, Russia	R	*L. dispar*

Table 5. continued

Viral Product	Producer	Status	Target pest(s)
10. *Malacosoma neustria* NPV			
Virin KSh	NPO Vector, Russia	R	*M.neustria*
11. *Mamestra brassicae* NPV			
Mamestrin	Calliope, France	S	*M. brassicae, Heliothis* spp
Virin-EKS	NPO Vector, Russia	R	*Spodoptera* spp.
12. *Neodiprion sertifer* NPV			
Monisarmiovirus Kemira, Finland		R	*N. sertifer*
Virox	Oxford Virology, UK	R	*N. sertifer*
Preserve	MicroGeneSys,USA	S	*N. sertifer*
Neocheck-S	USDA Forest Service	R*	*N. sertifer*
Virin-Diprion	NPO Vector, Russia	R	*N. sertifer*
13. *Neodiprion lecontei* NPV			
Lecontvirus	Canadian Forestry Service	R*	*N. lecontei*
14. *Orgyia pseudotsugata* NPV			
TM Biocontrol-1USDA Forest Service		R*	*O. pseudotsugata*
Virtuss	Canadian Forestry Service	R	*O. pseudotsugata*
15. *Pieris rapae* GV			
PrGV(W1-78)	- Mainland China	R	*P. rapae*
16. *Plutella xylostella* GV			
PxGV	- Mainland China	R	*P. xylostella*
17. *Spodoptera exigua* NPV			
Spod-X	IPO-DLO, Netherlands	R	*S. exigua*
	Crop Genetics International, USA	R	*Spodoptera* spp.
18. *Spodoptera littoralis* NPV			
Spodopterin	Calliope, France	S	*S. littoralis*
19. *Spodoptera sunia* NPV			
VPN 82	Agricola El Sol, Guatemala	R	*S. sunia, S. exigua*
20. *Stilpnotia salicia* NPV			
Virin LS	NPO Vector, Russia	S	*S. salicis*

* Products produced and used by goverment agency and, therefore, not commercially available.
R = registered, S = pre-registration, RN = registration not requested, W = withdrawn.

界高，經常受到對森林有專一性的害蟲爲害。此外，主要幾個林產國家如加拿大和瑞典法令禁止於森林地區使用化學殺蟲劑。在此情況下蟲害防治有效且合法的方法，就是使用生物製劑諸如蘇力菌和病毒[12]。

森林害蟲如吉普賽舞蛾，天幕毛蟲(*Malacosoma neustria*)，歐洲松葉蜂，紅頭松葉蜂(*N. lecontei*)，花旗松毒蛾(*Orgyia pseudotsugata*)，雪毒蛾(*Stilpnotia salicis*)均能以其核多角體病毒殺蟲劑商品進行防治。蘋果蛀心蛾(*Cydia pomonella*)以其顆粒體病毒(CpGV)防治時，有良好效果，九年防治效果的比較，均有不俗的表現(表六)。

表六、在海德堡附近的一處試驗田連續九年以CpGV或傳統化學殺蟲劑處理蘋果蛀心蛾之防治效果比較[15]

Table 6. Efficacy of the codling moth granulosis virus (CpGV) during 9 years on an experimental field near Heidelberg in comparison to conventional chemical insecticide treatments

Year	% Reduction of codling	moth damage
	CpGV	insecticides
1974	76.7	-
1975	78.3	80.5
1976	46.0	39.6
1977	76.5	94.8
1978	87.0	99.0
1979	90.3	98.5
1980	58.1	80.7
1981	58.5	90.1
1982	87.0	99.2

除了對蘋果蛀心蛾有良好效果外，由於其選擇性高，不傷天敵，天敵因而受到保育，從而避免爲了防治其他害蟲而使用化學藥劑。吾人可以從表六得知使用 CpGV 防治蘋果蛀心蛾要比使用固殺松(gusathion, MS) 對天敵的傷害少得多，因爲經CpGV處理的蘋果葉片上的歐洲葉蟎數目爲化學處理的百分之一，遠低經濟爲害限界，而化學藥劑處理的蘋果樹，其葉片受到嚴重的傷害，栽植蘋果的農民則不可避免地一定要加添使用殺蟎劑 (表七)。

目前CpGV共有三種產品已經註冊，另有兩種產品爲前註冊(pre-registration) 狀態，可以提供果農防治在蘋果，梨子和胡桃樹上蘋果蛀心蛾[12]。

1993年甘藍夜蛾核多角體病毒(*Mamestra brassicae,* NPV) Calliope公司以Mamestrin之商品名在法國註冊上市，用來防治甘藍上之甘藍夜蛾。尙可用來防治非洲地區棉花上之害蟲，亦可用於番茄上害蟲之防治。據稱該公司每天可生產三十萬頭幼蟲足夠生產處理一百公頃所需的病毒。每公頃施用 5 公升約相當於每公頃10^{13}PIB 之劑量。此產品在害蟲產卵期間，每 7 天需施用一次，因其對紫外線敏感，且對幼期之幼蟲有較高的活性之故。Calliope 之另一產品 Spodopterin 則是用

來防治在非洲地區棉花田已經產生抗藥性的海灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis*)。每公頃 4 公升的量約相當於每公頃10^{13}PIB 。而在歐洲則擬用於防治溫室中之 *Spodoptera* sp.[12] 。

表七、以CpGV或固殺松處理對蘋果葉片上歐洲葉螨豐度之影響[15].

Table 7. Comparative effect of codling moth granulosis virus (CpGV) and Gusathion MS treatments on the abundance of red spider mites (Panonychus ulmi) on apple leaves

Sampling date	Treatment	Mites per leaf*
02. 08. 1982	CpGV	29
	Gusathion	3142
11. 08. 1982	CpGV	13
	Gusathion	2251

* Average number of eggs, larvae and adults

桿狀病毒殺蟲效果之改善

桿狀病毒由於殺蟲時間長，在田間安定性受到紫外線破壞，寄主範圍窄，不易於量產，而使其發展受到限制。除了可繼續自田間發掘毒力強、寄主範圍廣的病毒彌補上述缺失外，尚可經由基因工程改造、病毒增強因子之研究和製劑配方之改進，來改善桿狀病毒的殺蟲效果。

桿狀病毒之基因工程改造

1. 在桿狀病毒基因組中插入對昆蟲具特異性之荷爾蒙，酶，毒素或蛋白質基因構築桿狀病毒使其有較佳之殺蟲活性，首先要鑑定能防礙昆蟲代謝的基因爲何。可能的策略包括經由桿狀病毒重組體在昆蟲體內，過度表達調節利尿(利尿荷爾蒙, diuretic hormone) 或變態(prothoracicotropic hormone ；孵化荷爾蒙， eclosion hormone; allatostatin, allatotropin)之胜肽荷爾蒙，或者是過度生產酵毒(青春荷爾蒙酯酶；juvenile hormone esterase ；幾丁質酶，chitinase)。其他的侯選基因尙包括對昆蟲有特異性的毒素諸如蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*)或蝎與蟎類的神經毒。這些基因的產物，當經由桿狀病毒載體以高水準表現時，干擾昆蟲的代謝，造成對昆蟲許多影響，其中包括了提早停止取食(見表八、九)。

表八、桿狀病毒經改造後生產具昆蟲特異性之荷爾蒙、酵素及蛋白質

Table 8. Engineered baculovirus producing insect-specific hormones, enzymes, proteins

Recombinant expressing	Intrinsic effect	Effect on insect	Reference
Diuretic hormone	water balance	20% reduction in LT50	39
Heliothis virescens juvenile hormone esterase	regulates molt	decrease weight gain	24
Manduca sexta eclosin hormone	eclosin	none	16
Maize mitoch protein URF13	male sterility in plants	toxic to insects	35

表九、桿狀病毒經改造後生產殺蟲毒素基因

Table 9. Engineered baculoviruses producing insecticidal toxin genes

Recombinant expressing	intrinsic effect	effect on insect	Reference
Butheus eupus toxin	paralysis	none	10
Androctonus australis toxin	paralysis	20% reduction in LT50,	57
		reduced feeding,reduced feeding and damage of leaves	7
Pyremotes tritici toxin	paralysis	toxic to insects	65
Btk δ -endotoxin	midgut paralysis	none	45
Bta cryIA (b)	midgut paralysis	none	41
Btm cryIVD	midgut paralysis	none	53

初期企圖改造病毒以增加毒並不成功。第一個攜有編碼蝎子(*Buthus eupeus*)毒素基因的病毒重組體，產生的毒素量並不能造成可偵測的生物活性[10]。蘇力菌毒素可在昆蟲細胞內和昆蟲上大量生產，且其對標的昆蟲之活性與細菌本身所生產的毒素活性相等[41,45]。但是在重組體內之細菌毒素在與野生型病毒相比較時，並不能增加其殺蟲活性。Pang *et al.*[53]將 cryIVD 基因導入AcNPV，能產生殺蚊之原毒素，亦無改良效果。將利尿荷爾蒙基因[39]和來自菸草青蟲(*Heliothis virescens*)青春荷爾蒙酯酶[24]導入重組桿狀病毒中，在與對照病毒相比時，對寄主昆蟲之毒力，有些許增加，但插入孵化荷爾蒙基因[16]則無影響。

利用桿狀病毒重組體，將來自節肢動物阿爾及利亞蝎(*Androctonus austalis*)[57]和蟎(*Pyemotes tritici*)[65]之神經毒素基因，使其有所表現，則是最近的突破。此重組體分泌毒素進入蟲體，由於急速麻痺，可使寄主死亡之時間有顯著的減少。另外一個好處是取食爲害有相當程度的降低。龐義等亦將阿爾及利亞蝎之神經毒素基因，插入到擬尺蠖 NPV內，此株重組病毒可感染擬尺蠖，甜菜夜蛾，玉米穗蟲(*Heliothis armigera*)等害蟲，受感染之幼蟲，2-3天出現麻痺症狀，取食減少最後死亡，在保護植物葉片免受爲害方面效果顯著[7]。又，Wood *et al.*[69]及Hughes *et al.*[29]亦將蜘蛛毒素基因插入 AcMNPV之基因組內。最近玉米粒線體蛋白 URF13 的表現，在標的昆蟲上已經呈現殺蟲活性[35]。此項研究提醒我們要對表現異源蛋白的重組體重新評估。

2.異源病毒之重組擴大殺蟲範圍

斜紋夜盜 NPV(*Spodoptera litura* NPV, SLNPV)病毒粒子與甜菜夜蛾NPV(*S. exigua* NPV,

SeNPV) DNA BamHI 切片混合注射斜紋夜蛾幼蟲，一週後收獲病蟲血淋巴，接種 SE-1 細胞，細胞可被感染，且得到的重組病毒可在SE-1細胞上穩定傳代，取細胞增殖的多角體分別餵飼甜菜夜蛾幼蟲和斜紋夜盜幼蟲，幼蟲一週後死亡，呈現典型的多角體感染症狀。說明在SE-1細胞上篩選得到的是遺傳上穩定、寄主範圍擴大了的重組病毒。甜菜夜蛾NPV病毒粒子與斜紋夜蛾NPV DNA EcoRI 切片段超感染SE-1細胞，收集多角體餵飼斜紋夜盜幼蟲，一週後取病蟲血淋巴接種SE-1細胞，重複四次，每次在SE-1細胞上篩選到的病毒都能在SE-1細胞上穩定傳代，得到的多角體都能感染斜紋夜盜幼蟲，說明得到了寄主範圍擴大的、穩定的重組病毒[5]。

3.修飾病毒本身基因

苜蓿尺蠖蛾核多角體病毒 AcMNPV 含有一編號57kDa由 506個氨基酸組成之多肽 (即蛻皮素類固醇尿甘二磷酸—糖基轉移酶，ecdysteroid UDP-glucosyl-transferase)之egt 基因。egt 基因在AcMNPV感染蟲體後的表達可阻止幼蟲之蛻皮和化蛹，促進病毒自身的增殖。若刪除 egt 基因之後可顯著地改善病毒作爲殺蟲劑之特性，幼蟲經 egt刪除後之突變種感染後，比經野生型感染之幼蟲在取食量上有相當程度的減少，死亡亦提前[48,49]。若將 egt基因刪除，再插入阿爾及利亞蝎毒(AaIT)基因構築成vEGTDEL-AaIT AcNPV，在生體外測試，證實該重組病毒對鱗翅類細胞而言，是最有效的生物藥劑。其田間測試早已提出，但在美國環保署的審查仍懸而未決[54]。

病毒增強因子之研究

Lowe and Pascke [37,38] 證實 NPV和GV 之混合對擬尺蠖有累加作用。NPV-GV之混合對美國白蛾(*Hyphantria cunea*)和茶姬捲葉蛾(*Adoxophyes orana*)[20,31]亦有相似之結果。Tanada [60,61] 指出NPV和GV對一點粘蟲(*Pseudaletia unipuncta*)有協力關係(synergistic association)。另外，對其他鱗翅目的昆蟲如甜菜夜蛾，擬尺蠖，粘蟲(*P. separata*)及 *Xestia C-nigrum* 亦有相似的協力關係[13,22,32,58]。

Tanada and Hukuhara [62] 認爲GV之顆粒體的微小組成分，可能是種蛋白質，能增强 NPV的感染。此協力因子(synergistic factor, SyF)已從顆粒體以 gel filtration 和 hydroxylapatite column chromatography分離出來[25,63]。協力因子，再經證實爲是種脂蛋白 (lipoprotein) 其分子量爲98 kDa [36,72,76]，協力因子則位於蛋白基質之深處[73]，或爲GV的囊膜的一種組成分[76]，協力的相互作用發生位置在中腸且在病毒穿入血腔之前[62]。在協力因子存在時，附著於中腸細胞之病毒粒子(viron)的數目因而增加[64]，因協力因子對中腸細胞和病毒囊膜均具親和力[30,66,73]。協力因子亦增强 NPV在數種鱗翅目細胞系之生體外感染[50,51]，其原因可能由於增强發芽病毒之附著[52]或增進細胞膜和病毒囊膜融合之故[30,76]，另外，昆蟲痘病毒(entomopoxvirus, EPV)和 NPV亦有協力之相互作用。EPV 之球狀包涵體(spheroid)能夠增强NPV對粘蟲幼蟲的感染，此增强因子(enhancing factor, EF)爲分子量38kDa之醣蛋白[70,71]。

製劑配方之改進

商品化桿狀病毒的產品經調配後需能維持住其生物活性，其儲存壽命、配藥槽混合時之相容性、施用和覆蓋的特性均應獲得改善。通常之劑型爲可濕性粉劑，亦有懸浮劑，粉劑和粒劑者。製劑最重要的一個方向是產品的標準化。可在光學顯微鏡下計數得到數據。此方法相對地比較不可靠，因病毒數目並不能反應製劑生物活性。在病毒抽取前冷凍昆蟲可改善病毒的安定性，但儲

藏常造成效果的喪失。因此製劑本身的生物活性可做爲品質管制的方法。桿狀病毒通常十分具有活性，劑量在1-5個包涵體即能造成昆蟲的死亡。然而，爲了要改善產品之成本效益，製劑配方能夠增進病毒在田間和儲藏期之安定性，就顯得十分重要了。可濕性粉劑通常較懸浮劑更有利於儲藏，因後者不易阻止微生物的生長。許多乾的製劑並不添加界面活性劑，因其降低病毒活性之故。在施用之前才加入界面活性佐劑。但Sandoz開發的噴霧乾燥製劑除外。保持產品活性的重要因子在於儲存產品時濕度低、無光照、pH保持中性[12]。

最近在吉普賽舞蛾MNPV製劑中添加光學或螢光亮劑，能使產品活性有明顯的增加。此類化合物原先是以紫外線保護劑的角色加入製劑中，但卻發現能增加數種病毒對寄主的毒力，在一實驗室的測試發現在加入1％之亮劑後，吉普賽舞蛾NPV對四齡吉普賽舞蛾之LC50減少400-1,000倍。但活性增加的原因未明[12]。另外，甜菜夜蛾NPV在添加Bivert, Agral90或Nu-film等展著劑後具有增效作用。且經測試後發現尿酸，活性碳或黃嘌呤四種紫外線保護劑對甜菜夜蛾NPV有較佳的保護效果[3,4]。而中筋麵粉對斜紋夜盜NPV有較佳之紫外線保護效果[1]。

另外一個改善病毒活性的方法是與其他具生物活性的物質做配藥槽混合。添加蘇力菌或與低濃度化學殺蟲劑混合，均能使病毒有較佳的效果。使用化學殺蟲劑可能會使昆蟲衰弱，使其更易受病毒感染。其他方法尚包括利用取食刺激劑，誘使昆蟲取食大量的病毒。雖然能增加殺蟲效果，但時常造成在尚未防治前作物之損失，除了森林外，添加取食刺激劑被認爲接受程度不高。但是若種植陷阱作物，同時施用昆蟲誘引劑和經添加取食刺激劑之病毒製劑於其上，則能有效地防治標的害蟲又不會造成作物的損失，不失爲一個可行的方法，值得更進一步的探討與開發[12]。

構築具生物安全性之重組桿狀病毒

桿狀病毒在世界不同地區大規模地當成殺蟲劑使用的歷史已有半個世紀之久。其安全性有完整的紀錄可尋[59]，因其具有特異性使得在環境中施用時，就有先天的安全性。除了AcMNPV和芹菜夜蛾多核衣殼核多角體病毒(*Syngapha falcifera* multiple nuclear poly hedrosis Virus, SFaMNPV)外，大多數桿狀病毒僅感染單一或少數相關的昆蟲種類。其對非標的寄主包括脊椎動物、植物和有益無脊椎動物無不良作用，因此對環境無生態上之危險(ecological hazard)。但經遺傳工程改造後之病毒則需考慮其造成之風險。至於風險包括寄主範圍之錯列；經造改後之病毒自試驗點分散到其他生態系統去；病毒基因組之物理不安定性與其他生物交換基因訊息，特別是殺蟲基因之可能性等。最基本之疑問在於經遺傳工程改造後的桿狀病毒究竟在活動狀態上與野型病毒有何種程度的差異[67]。

利用遺傳工程改造桿狀病毒，目的在於增進其殺蟲活性，以利蟲防治。雖然可預期其無不良作用，但考慮到安全性，如果能使得經改造後之重組病毒，在環境持續性減短，不失爲一理想的手段。又如減少重組病毒之生物適應性亦爲良好的方案，有三種策略達到上述的目的。

第一個策略爲生產能維持毒力而有著減少生物適應性的病毒。依循著基因挿入的策略，將基因從桿狀病毒中刪除。此種刪除能造成病毒持續性或後代病毒生產力的減少，因而使其流行疫病潛能受到極大的限制。可刪除的基因諸如polyhedrin, p10, polyhedron envelope gene, egt,及chitin-ase等。(表十)[67]

若以殺蟲基因取代polyhedrin基因而成無包涵體(OB-minus)重組體，當與野生型桿狀病毒共

感染(co-infection)，可共同包涵(co-occlusion)於野生型桿狀病毒之包涵體內，因而可散佈到環境中去。當釋於到環境時，無包涵體之基因則有選擇性的劣勢，(迅速地被不活化)，故而僅具有包涵體者具感染性且有持續性。無包涵體之基因型逐漸從基因庫中消失。在美國Boyce Thmpson Institute of plant Research at cornell之 Dr. H. A.Wood，於1990起從事無包涵體病毒的田間釋放實驗。此刪除 Polyhedrin 之突變種重組體很快地自生態系統中消失(表十一)[67]。

表十、經基因刪除的突變種其生存潛能降低[67]

Table 10. Deletion mutants with reducded potential for survival

Gene affected	Biological consequence	Environmental consequence
polyhedrin	no polyhedra	low persistence
p10	lack of fibrillar structures fragile polyhedra;impaired polyhedra release	reduced stability; and spread
polyhedron envelope gene (34kDa)	no polyhedron envelope	reduced stability; alkali sensitivity
ecdysteroid UDP -glucosyl transferase (egt)	accelerated molt	shortened LT50; reduced virus yield
chitinase	impaired insect lysis	reduced spread

表十一、以共同包涵病毒方式施用時無包涵體突變種在田間之存活情形[67]

Table11. Survival of occlusion body-minus deletion mutants in the field when applied as co-occluded virus

Year applied	Polyhedrs released/ha	% OB deletion mutant
1989	1 x 1014	42%
1990		13. 8%
1991		4. 5%

最近的進展是將細胞內病毒粒子，也就是等待包涵的未包涵病毒(preoccluded virus) 調製成製劑噴灑。但避免共同包涵的過程則不易控制[67]。

第二個策略是以病毒內在自殺機制做爲基礎來擬議。此種自殺式桿狀病毒，在實驗室飼育的昆蟲體內能產生多角體，但田間的昆蟲棲群則否。此類病毒在核多角體基因的轉錄起始點

(transcriptional start site)之附近含有大腸桿菌 LacI repressor 序列。LacI編碼序列可借 p10啓動子之控制插入到多角體基因之上游位置。如 Lac I蛋白與repressor 序列結合則阻止了多角體的轉錄。當多角體被釋放到田間時，重組病毒可以感染且殺死昆蟲，但只能生產無包涵體的病毒粒子，故不能在環境中存活[67]。

第三個策略是在殺蟲基因的上游封入可誘發啓動子(inducible promotor)，這些啓動子包括溫度敏感，金屬或荷爾蒙可誘發啓動子。使得多角體僅在被誘發的條件下，譬如在生產時產生，但在田間則否。第二和第三個策略的缺點在於在田間時重組病毒會回復到野生型[67]。

結　論

由於桿狀病毒有許多先天性之缺陷，包括殺蟲範圍窄、殺蟲速度慢、易受紫外線破壞、生產不易而成本高等，致使桿狀病毒在蟲害防治上之應用受到侷限。吾人可採取多項方法，針對上述之缺點提出解決之道。可自田間分離寄主範圍廣的病毒，其中芹菜夜蛾多核衣殼核多角體病毒其核酸內切限制 模式和病原性均與 AchNPV不同[44]，可感染鱗翅目10個科的30餘種昆蟲[26]，生體外之毒力測試顯示此病毒可感染擬尺蠖，小菜蛾 (*Plutella xylostella*)，菸草青蟲，玉米穗蟲(*H. armigera*)，家蠶和甜菜夜蛾(*S. exigua*) 等細胞系[6,44]。頗具開發之潛力，目前 Zeneca 農藥公司對此病毒投下相當的人力，企圖儘早將此病毒開發上市。另外亦可找尋毒力强之天然品系或經遺傳工程改造來增加毒力、提高殺蟲速率及殺蟲範圍。病毒增强因子之研究和製劑改良，也分別可以增加殺蟲效果和在田間與櫥架之持續性。發展昆蟲細胞無血清培養基，篩選高病毒產量之昆蟲細胞品系，可降低病毒在生體外生產之成本。建立自動化昆蟲大量飼育、病毒生產及回收之流程則爲生體內量產病毒必需採行的方案。

再者，各類專家、學者之間的整合與合作，亦是攸關以桿狀病毒防治害蟲成敗的關鍵。這些研究人員包括在實驗室內研究的遺傳工程專家；能減輕環境風險且能改善效果的生態學者；蟲害管理專家和法規及推廣人員。事實上良好的團隊合作，有助於避免重複過去所犯的錯誤。我們深信有廉價而品質良好、殺蟲範圍廣、效果好的病毒殺蟲劑之供應，配合經過整合後之防治策略，可預期以桿狀病毒來防治害蟲，會以緩慢但穩健的腳步向前邁進。

參考文獻

1. 石正人、樊修秀、王重雄。1995。紫外線對斜紋夜蛾核多角體病毒之影響。植保會刊 37: 169-177。
2. 陳秋男。1978。作物蟲害管理的生態學基礎 科學與技術 1 : 93-100。
3. 高穗生、夏維泰、黃莉欣。1991。核多角體病毒添加展著劑對甜菜夜蛾幼蟲致病效果之影響。中華昆蟲 11: 330-334。
4. 高穗生、黃莉欣。1992。甜菜夜蛾核多角體病毒紫外線保護劑之效果評估。 中華昆蟲 12: 31-40。
5. 劉彥文、龐義、蒲蟄龍。1995。斜紋夜蛾核多角體病毒與甜菜夜蛾型多角體病毒異源重組擴大殺蟲譜。第六屆全國殺蟲微生物學術討論會，中國微生物學會、中國昆蟲學會主辦。1995年 4

月2日至5日・廣州。議程及論文摘要 p.89。
6. 錢鋒、余澤華、陳曲侯。1995。芹菜夜蛾核型多角體病毒感染五種昆蟲細胞系的研究。第六屆全國殺蟲微生物學術討論會，中國微生物學會、中國昆蟲學會主辦。1995年4月2日至5日。廣州。議程及論文摘要 p.102。
7. 龐義、姚斌、范雲六、趙榮敏、王天原、王珣章、龍綮新、莊美寶。1995。利用蝎毒基因改良桿狀病毒殺蟲劑。昆蟲天敵 17: 90-92。
8. Bedford, G. O. 1981. Control of rhinoceros beetle by baculovirus. In: Microbial Control of Pests and Pest Diseases. (Burges,H. D., ed.) pp.409-426. Academic Press. London and New York.
9. Biever, K.D., Andrews, P. L., Andrews, P. A. 1982. Use of a predator, *Podisus maculiventris,* to distribute virus and initiate epizootics. J. Econ. Ent. 75 : 150-152.
10. Carbonell, L. F., Hodge, M. R., Tomalski, M. D., and Miller, L. K.1988. Synthesis of a gene coding for an insect-specific scorpion neurotoxin and attempts to express it using baculovirus. vectors. Gene 73: 409-418.
11. Conway, R. G. 1977. Man versus Pests. In : Theoretical Ecology. (May, R. M., ed.) pp. 356-386. Blackwell Scientific Publns., Oxford, UK, 2nd edn.
12. Copping, L. G. 1993. Baculoviruses in Crop Protection. (DS85). PJB Publications Ltd. 124pp.
13. Derksen, A. C. G., and Granados, R, R. 1988. Alteration of a lepi-dopteran peritrophic membrane by baculoviruses and enhancement of viral infectivity. Virology 167: 242-250.
14. Deseo, K. K. V., Rovesti, L. 1992. Lotto Microbiologica Control Fitofagi Teoriae Practico. Edagricole, Bologna, pp. 156-157.
15. Dickler, E., and Huber, J. 1984. Das Apfelwicker Granulosevirus: Stand der Forschung und Moglichkeiten seiner Einfuhrung in die Obstbaupraxis. Gesunde Pfangen 36: 285-289.
16. Eldridge, R., O'Relly D. R., and Miller, L. K. 1992 . Efficacy of a baculovirus pesticide expressing an eclosion hormone gene. Biological control 2 : 104-110.
17. Entwistle, P. F. 1983. Control of insects by virus diseases. Biocontrol News and Information 4 : 203-225.
18. Entwistle, P. F., and Evans, H. F. 1985. Viral Control. In: Compre-hensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. (Gilbert, L. I., and Kerkut, G. A., eds.) Vol. 12. pp. 347-412. Pergamon Press, Oxford, UK.
19. Entwistle, P. F. 1986. Epizootiology and strategies of microbial control. In: Biological Plant and Health Protection.(Franz, J. M., ed.) pp. 257-278. G. Fischer Verlag. Stuttgart. New York.
20. Fluckiger, C. R. 1982. Untersuchungen uber drei Baculovirus Isolate des Schalenwicklers *Adoxophyes orana* F. V. R.(Lep., Tortricidae), dessen Phanologie und erste Feldversuche, als Grundlagen zur mikrobiologishen Bekampfung dieses Obstschadlings. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. 55: 241-245.
21. Francki, R. I. B., Fauquet, C. M., Knuddson, D.; and Brown, F. (eds.). 1991. Classification and nomenclature of viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Archives of Virology Supplementum 2,450 pp.

22. Goto, C. 1990. Enhancement of a nuclear polyhedrosis virus (NPV) infection by a granulosis virus (GV) isolated from the spotted cutworm, *Xestia c-nigrum* L. (Lepidoptera : Noctuidae). Appl. Entomol. Zool. 25: 135-137.

23. Granados, R. R., and Federici, B. A. (eds.). 1986. The Biology of Baculoviruses (two volumes) pp. 275+276. CRC Press. Boca Raton, USA.

24. Hammock, B. D., Bomming, B. C., Possee, R. D., Hanzlik, T. N., and Maeda, S. 1990. Expression and effects of the juvenile hormone esterase in a baculovirus vector. Nature 344 : 458-461.

25. Hara. S., Tanada, Y., and Omi, E. M. 1976. Isolation and character-ization of a synergistic enzyme from the capsule of a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta.* J. Invertebr. Pathol. 27: 115-124.

26. Hosteller, D. L., and Pultter, B. 1991. A new broad host range polyhedrosis from a celery looper, *Anagrapha falcifera* (Kirby), (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. 20: 1480-1488.

27. Huger, A. M. 1966. A virus disease of the Indian rhinoceros beetle *Oryctes rhinoceros* caused by a new type of insect virus *Rhabdio-virus oryctes* gen. n. sp. n. J. Invertebr. Pathol 8 : 38-51.

28. Huger, A. M. 1973. Grundlagen zur biologishen Bekampfung des Indishen Nashornkafers, *Orycetes rhinoceres* (L.) mit *Rhabdiovirus orycetes* Histopathologie der Virose bei Kafern. Z. Angew. Entomol. 72 : 309-319.

29. Hughes, P. R., Wood, H. A., Breen, J. P., Simpson, S. F., Duggan, A., and Dybas, J. A. 1994. Genetic enchancement of baculovirus pesticides with an insecticidal spider toxin : cessation-of-feeding ?assays and time-to-death assays with several insect species. Proc. VIth International Colloquium on Invertebrate and Microbial Control. Montpillier, Framce. p.160.

30. Hukuhara, T., and Zhu, Y, 1989. Enhancement of *in vitro* infectivity of a nuclear polyhedrosis virus by a factor in the capsule of a granulosis virus. J. Invertebr. Pathol. 54: 71-78.

31. Hukuhara, T., Arga, H., and Kobayashi, M. 1969. On the granulosis Of *Hyphantria cunea* Drury. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 13: 1-4.

32. Hukuhara, T., Tamura, K., Zhu, Y., Abe, H., and Tanada, Y. 1987. Synergistic factor shows specificity in enhancing nuclear polyhe-drosis virus infections. Appl. Entomol. Zool. 22: 235-236.

33. Ignoffo, C. M., Garcia, C., Hostetter, D. L., and Pinnell, R. E. 1980. Transplanting: a method of introducing an insect virus into an ecosyatem. Environ. Ent. 9 : 153-154

34. Kalmakoff, J., and Crawford, A. M. 1982. Enzootic virus control of Wiseana spp. in a pasture environment. In: Microbial and Viral Pesticides. (Kurstak, E., ed.) pp. 435-448. Marcel Dekker, New York.

35. Korth, K. L., and Levings III, C.S. 1993. Baculovirus expression of the maize mitochondrial protein URF13 confers insecticidal activity in cell cultures and larvae. PNAS USA 90:3388-3392.

36. Kozuma, K., and Hukuhara, T. 1991. Synergistic factor of an army-worm granulosis virus contains phosphatidylcholine. J. Invertebr. Pathol. 59: 328-329.

37. Lowe, R. E., and Paschke, J. D. 1968a. Simultaneous infection with the nucleopoyhedrosis and granulosis viruses of *Trichoplusia ni.* J. Invertebr. Pathol. 12: 86-92.

38. Lowe, R. E., and Paschke, J. D. 1968b. Pathology of a double viral infection of *Trichoplusia ni.* J. Invertebr. Pathol. 12: 438-443.

39. Maeda, S. 1989. Increased insecticidal effect by a recombinant baculovirus carrying a synthetic diuretic hormone gene. Biochem. Biophys. Res. Commun. 165 : 1177-1183.

40. Marschall, K. M., and loane, I. 1982. The effect of re-release of *Oryctes rhinoceros* baculovirus in the biological control of Rhin-oceros bettle in Western Samoa. J. Invertebr. Pathol. 39: 267-276.

41. Martens, J. W., Honee, G., Zuidema, D.; Van Lent, J. W. M., Visser, B., and Vlak J. M. 1990. Insecticidal activity of a bacterial crystal protein expressed by a baculovirus recombinant in insect cells. Appl. Environ. Microbiol. 56 : 2764-2770.

42. Martignoni, M. E., and Iwai, P. J. 1986. A catalog viral diseases of insects, mites, and ticks. USDA Forest Service PNW-195. Washing-ton, USA.

43. Matthews, R. E. F. 1982. Classification and nomenculture of viruses Intervirology. 17: 1-199.

44. McIntosh, A. H. 1991. *In vitro* infectivity of a clonal isolate of *Synagrapha falcifera* (celery looper) multiple nuclear polyhedrosis virus. J. Invertebr. Pathol. 57: 441-442.

45. Merrywheather, A. T., Weyer, U., Harris, M. P. G., Hirst, H. M., Booth, T., and Possee, R. D. 1990. Construction of genetically eng-ineered baculovirus insecticides containing the *Bacillus thuriniensis* subsp. kurstaki HD-73 delta endotoxin. J. Gen. Virol. 71:1535-1544.

46. Mohamed, M. A., Coppel, H. C., Hall, D. J., and Podgwaite, J. D. 1981. Field release of virus-sprayed adult parasitoids of the European pine sawfly (Hymenoptera: Diprionidiae) in Wisconsin. Gt. Lakes Ent. 14: 177-178.

47. Moore, S. G., Kalmakoff, J., and Miles, J. A. R. 1973. Virus diseases of Porina (*Wiseana* spp. Lepidoptera : Hepialidae). II. Transmission trials. N. Z. J. Zool. 1:85-95.

48. O'Relly, D. R. 1992. Improvement of a baculovirus pesticide by deletion the egt gene. In: Proceedings, Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases, 1992 Brighton, November 23-26, 1992. Farm, UK; British Crop Protection Council. pp.387-392.

49. O'Relly, D. R., and Miller, L. K. 1989. A baculovirus block insect molting by producing ecdysteroid UDP-glucosyl transferase. Science 245: 1110-1112.

50. Ohba, M., and Tanada, Y. 1983. A synergistic factor enhances the *in vitro* infection of an insect baculovirus. Naturwissenschaften 70: 613-614.

51. Ohba, M., and Tanada, Y. 1984a. *In vitro* enhancement of nuclear poly-hedrosis virus infection by the synergistic facto of a granulosis virus of the armyworm *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noc-tuidae). Ann. Virol. (Inst. Pastuer) 135E: 167-176.

52. Ohba, M., and Tanada, Y. 1984b. A synergistic factor of an insect granulosis virus agglutinates insect cells. Experientia 40: 742- 744.

53. Pang, Y., Frutos, R., and Federici, B. A. 1992. Synthesis and toxicity of full-length and truncated bacterial CryIVD mosquitocidal proteins expressed in lepidopteran cells using a baculovirus vector. J. Gen. Virol. 73: 89-101.

54. Patterson, R, M. Selkirk, J. K., and Merrick, B. A. 1995. Baculovirus and insect cell gene expression : review of baculovirus biotechnology. Environ. Health Persp. 103 : 756-759.

55. Roberts, H. 1979. *Lymantria ninayi* B. Br. (Lep. Fam. Lymantriidae) a potential danger to *Pinus* afforestation in the highlands of Papua New Guinea. Tropical Forestry Research Note SR 37. Papua new Guinea, 12 pp.

56. Southwood, T. R. E. 1977. The relevance of population dynamic theory to pest status. In: Origins of Pest, Parasite, Disease and Weed Problems. (Cherrett, J. M., and Sager, G. R., eds.) Blackwell Scientific Publns., Oxford, UK.

57. Stewart, L. M. D., Hirst, M., Ferber, M. L., Merrywheather, A. T., Caylay, P. J., and Possee, R. D. 1991. Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect-specific toxin gene. Nature 352: 85-88.

58. Stoddard, P. J. 1980. "Persistence and Transmission of Baculoviruses in Insect Populations in Alfalfa." Ph. D. Thesis University of California, Berkeley.

59. Summers, M. D., Engler, R., Falcon, L. A., and Vail, P. 1975. Baculovi-viruses for insect pest control: safety considerations. American Society for Microbiology, Washington, USA, pp.186.

60. Tanada,Y. 1956. Some factors affecting the susceptibility of the army-worm, to virus infections. J. Econ. Entomol. 49: 52-57.

61. Tanada, Y. 1959. Synergism betweet two viruses the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera, Noctuidae). J. Insect Pathol. 1: 215-231.

62. Tanada, Y., and Hukuhara, T. 1971. Enhanced infection of a nuclear-polyhedrosis virus in larvae of the armyworm, *Peseudaletia unipuncta,* by a factor in the capsule of a granulosis virus. J. Invertebr. Pathol. 17: 116-126.

63. Tanada, Y., Himeno, M., and Omi, E. M. 1973. Isolation of a factor, from the capsule of a granulosis virus, synergistic for a nuclear polyhedrosis virus of the armyworm. J. Invertebr. Pathol. 21: 31-40.

64. Tanada, Y., Hess, R. T., and Omi, E. M. 1975. Invasion of a nuclear polyhedrosis virus in midgut of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta,* and the enhancement of a synergistic enzyme. J. Invertbr. Pathol. 26: 99-104.

65. Tomalski, M. D., and Miller, L. K. 1991. Insect paralysis by baculovirus-mediated expression of a mite neurotoxin gene. Nature 352: 83-85.

66. Uchima, K., Harvey, J. P., Omi, E. M., and Tanada, Y. 1988. Binding granulosis virus of the armyworm (*Pseudaletia unipuncta*). Insect Biochem. 18: 645-650.

67. Vlak, J. M. 1993. Genetic engineering of baculoviruses. In : Opportunities for Molecular Biology in Crop Production. BCPC Monograph No.55 (Breodle, D. J., Bishop, D. H. L., L. G., Copping, Dixon G. K., and Hollomon, D. W., eds.) pp. 11-22. The British Crop Protection Council. Surrey, UK.

68. Volkman, L. E., and Keddy, B. A. 1990. Nuclear polyhedrosis virus path-ogenesis. Seminars in Virology 1: 249-256.

69. Wood, H. A., Hughes, P. R., Simpson, S. F., Breen, J, P. Duggan, A., and Dybas, J. A. 1994. Genetic enhancement of baculovirus pesticides with an insecticidal spider toxins: use of polyhedrin and p10 gene promoters. Proc. VIth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Montpillier, France. p. 159.
70. Xu, J., and Hukuhara, T. 1992. Enchanced infection of a nuclear poiyhedrosis virus in larvae of armyworm, *Pseudaletia unipuncta,* by a factor in the spheroids of an entomopoxvirus. J. Invertebr Pathol. 60: 259-264
71. Xu, J., and Hukuhara, T. 1994. Biochemical properties of an enhan-cing factor of an entomopoxvirus. J. Invertebr. Pathol. 63: 14 - 18.
72. Yamamoto, T., and Tanada, Y. 1978. Phospholipid, an enhancing compo-nent in the synergistic factor of a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta.* J. Invertbr. Pathol. 31: 48-56.
73. Yamamoto, T., and Tanada, Y. 1980. Physicochemical properties and location of capsule components, in particular the synergistic fac-tor, in the occlusion body a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta.* Virology 107: 434-440.
74. Young, E. C. 1974. The epizootiology of two pathogens of the coco-nut palm rhinoceros beetle. J. Invertebr. Pathol. 24: 82-92.
75. Zelazny, S. 1973. Studies on *Rhabdiovirus orycetes.* II Effect on adults of *Orycetes rhinoceros.* J. Invertebr. Pathol. 22: 122-126.
76. Zhu, Y., Hukuhara, T., and Tamura, K. 1989. Location of a synergi-stic factor in the capsule of a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta.* J. Invertebr. Pathol. 54: 48-56.

Control of Insect Pests by Baculoviruses

Suey-sheng Kao
Bipesticide Department, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute

Abstract

Baculoviruses (BVs) are natural pathogens of insects with great potential as pest control agents, due to their infectivity, lethality storage stability, safety for non-target organisms and environment. Several BVs have been registered and successfully used as short-term insecticides in the control of a variety of insect pests. However, based on the understanding the r-K strategy patterns of insect hosts, other approaches including epizootic prediction, classical biological control, semi-classccal biological control, virus resource management, parasitoid and predator support, autodissemination, early introductions and lattice introductions have also shown some promise in the suppres- sion of insect population. In spite of many advantages of BVs, some drawbacks including lack of virulence, limited host range, relatively slow speed of action and low field stability limited their use in pest control. A number of strategies has been identified to improve their insecticidal properties which include: genetical engineering of BVs, advancement of formulation, or utilization of viral enhancing factors. The approaches of genetic modification of viral genome include (i) the incorporation of genes encoding insect-specific hormones, enzymes, proteins and toxins, (ii) heterologous recombination of BVs, (iii) the deletion of egt gene. And, the possible risks associated with the release of genetically modified BVs were addressed and the construction of recombinants with biological safety was also discussed in this review.

Key words: baculoviruses, control, insect pest.